

GELOSE R2A

DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES DANS LES EAUX

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose R2A (Reasoner's 2A) est un milieu destiné au dénombrement des microorganismes aérobies viables totaux dans les eaux traitées telles que les eaux purifiées, hautement purifiées et les eaux pour préparation injectables.

Le milieu R2A est conforme à la formule décrite dans la Pharmacopée européenne (ancien milieu S).

2 PRINCIPES

Présents en quantité réduite, les éléments nutritifs permettent le développement des microorganismes ayant subi un stress.

La combinaison des sels minéraux maintient l'équilibre osmotique.

La présence de pyruvate de sodium permet d'activer le métabolisme bactérien.

3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de levure	0,5 g
- Peptone protéose	0,5 g
- Hydrolysate de caséine	0,5 g
- Glucose	0,5 g
- Amidon	0,5 g
- Phosphate dipotassique	0,3 g
- Sulfate de magnésium anhydre	0,024 g
- Pyruvate de sodium	0,3 g
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 18,1 g de milieu déshydraté (BK179) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles (diamètre 55 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
18,1 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du prêt-à-liquéfier

Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM183) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.

5 MODE D'EMPLOI

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- Déposer la membrane à la surface des boîtes préalablement ramenées à température ambiante, en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à 30-35 °C pendant au moins 5 jours.

✓ **Ensemencement :**
Filtration sur membrane

✓ **Incubation :**
Au moins 5 iours à 30-35 °C

6 LECTURE

Dénombrer les boîtes contenant moins de 150 UFC par filtre.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturelle après 48 heures d'incubation à 30-35 °C, inoculum ≤ 100 microorganismes

Microorganismes		Croissance (rapport de productivité : P_R)
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	$P_R \geq 50 \%$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	$P_R \geq 50 \%$

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-25 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes ou en flacons (*) : 180 jours à 2-25 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté

Flacon de 500 g BK179HA

Milieu prêt-à-liquéfier

Pack de 10 flacons de 100 mL BM18308

10 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

D. J. Reasoner and E. E.,Geldreich.A New Medium for the Enumeration and Subculture of Bacteria from Potable Water. Appl Environ Microbiol. Jan 1985; 49(1): 1–7.

Pharmacopée européenne. Eau purifiée.

Pharmacopée européenne. Eau hautement purifiée.

Pharmacopée européenne. Eau pour préparation injectables.

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : GELOSE R2A_FR_V2

Date création : 10-2014.

Date modification : 03-2016

Motif de révision : Révision générale